

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



Organismos Marinhos como Fonte de Novos Fármacos

Documento Definitivo

Matilde de Albuquerque Veloso Machado

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2019

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



Organismos Marinhos como Fonte de Novos Fármacos

Documento Definitivo

Matilde de Albuquerque Veloso Machado

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

Orientadora: Professora Doutora Generosa Teixeira

2019

Resumo

Os medicamentos disponíveis, atualmente, não permitem satisfazer as necessidades de ultrapassar alguns desafios no tratamento e prevenção de algumas doenças, havendo, portanto, a necessidade de encontrar substâncias para novos medicamentos. Os produtos naturais marinhos têm vindo a ser o foco de grande atenção para os investigadores devido à grande variedade de compostos bioativos que os organismos marinhos têm na sua composição. Nesta monografia, através da revisão bibliográfica, constatou-se que já existem fármacos aprovados e utilizados como alternativas a tratamentos convencionais, e ainda como adjuvantes nesses, potenciando a sua ação. É adicionalmente abordado o elevado número de substâncias em fase de estudos clínicos e pré-clínicos. As aplicações dos produtos naturais marinhos não se resumem à atividade farmacológica, pelo que outras aplicações como a cosmética e a utilização destes compostos como auxílio em técnicas laboratoriais e como ferramentas de diagnóstico, são pertinentes nesta abordagem. Os produtos naturais marinhos possuem algumas limitações, tanto ao nível da toxicidade, como ao nível de produção para a escala industrial, no entanto, cada vez se trabalha mais para combatê-las. A produção de metabolitos secundários, constitui um mecanismo de defesa dos organismos marinhos, no sentido de sobreviverem no mar. Estes metabolitos permitem o estudo de possíveis novos fármacos para tratamento de doenças humanas. Ainda para mais, muitos estudos reportaram que os produtos naturais marinhos podem ser usados como antimicrobianos, anti-inflamatórios, analgésicos, antioxidantes, antitumorais, e ainda no tratamento de doenças neurodegenerativas. Tal contribui para uma perspetiva alargada com potenciais aplicações em diferentes áreas. O desenvolvimento de técnicas, de síntese e hemi-síntese, permitiram o aumento do número de substâncias de origem marinha. Estas novas substâncias apresentam uma elevada especificidade molecular no alvo terapêutico, permitindo o desenvolvimento de novos fármacos. Os avanços da biotecnologia também proporcionam o desenvolvimento e evolução destes fármacos, visto que potenciam e melhoram os seus efeitos nos tratamentos.

Palavras – chave: Organismos marinhos; produtos naturais marinhos; fármacos marinhos; farmacologia

Abstract

Currently, available medicines do not allow to meet the needs of overcoming some challenges in the treatment and prevention of some diseases and, therefore, there is a need to find substances for new medicines. Natural marine products have been the focus of great attention for researchers due to the wide variety of bioactive compounds that marine organisms have in their composition. In this monograph, through the literature review, it was found that there are already approved drugs used as alternatives to conventional treatments, and also as adjuvants in these treatments, enhancing their action. The high number of substances in the phase of clinical and preclinical studies is also addressed. The uses of natural marine products are not limited to pharmacological activity, so other applications such as cosmetics and the use of these compounds as experimental and diagnostic tools are relevant in this approach. Natural marine products have some barriers, both in terms of toxicity and production on an industrial scale, but more and more work is being done to oppose them. The production of secondary metabolites is a defense mechanism for marine organisms to survive at sea. These metabolites allow the study of possible new drugs to treat human diseases. Furthermore, many studies have reported that natural marine products can be used as antimicrobials, anti-inflammatories, analgesics, antioxidants, antitumor drugs, and also in the treatment of neurodegenerative diseases. This contributes to a broader perspective of potential uses in different areas. The development of techniques, synthesis and hemi-synthesis, have allowed to increase the number of substances of marine origin. These new substances have a high molecular specificity in the therapeutic target, allowing the development of new drugs. Advances in biotechnology also enable the development and evolution of these drugs, as they potentiate and improve their effects on treatments.

Keywords: Marine organisms; natural marine products; marine drugs; pharmacology

Índice geral

Índice de figuras	5
Índice de tabelas	6
Introdução	7
Metodologia	8
Farmacologia de fármacos de origem marinha	9
Atividade antibacteriana	9
Atividade antiviral	11
Propriedades antimaláricas	13
Atividade anti-inflamatória	13
Atividade imunossupressora	14
Agentes cardiovasculares	14
Atividade analgésica	15
Atividade antioxidante	16
Atividade antitumoral	17
Aplicações Futuras	19
Outras aplicações	24
Ferramentas Experimentais e de Diagnóstico	24
Cosmética	25
Desafios para a indústria farmacêutica	27
Conclusões	30
Bibliografia	32

Índice de figuras

Figura 1. Estrutura do Avarol	12
Figura 2. Estrutura da Avarona	12
Figura 3. Processo da cascata inflamatória no interior da célula. A fosfolipase A2 (PLA2) catalisa a libertação de ácido araquidónico (AA) ligado à membrana para libertar o ácido araquidónico. Este é então convertido em leucotrienos e prostaglandinas pela lipoxigenase (LOX) e ciclooxygenase-2 (COX-2), respectivamente. As substâncias anti-inflamatórias	

derivadas de esponjas marinhas são principalmente inibidoras da PLA2 ou LOX, enquanto os compostos com atividade anti-inflamatória não esteroide (AINE) inibem a COX-2, mas também a COX-1 constitutiva. 14

Figura 4. Estrutura do ziconotídeo 16

Figura 5. Estrutura da trabectedina 19

Figura 6. Estrutura da citarabina ou Ara-C 19

Figura 7. Estrutura da halicondrina B 19

Figura 8. Estrutura do mesilato de eribuliana 19

Figura 9. Estruturas da Didemnina B e da Aplidina 20

Figura 10. Estrutura da dolastina 10 21

Figura 11. Estrutura da sintadotina 21

Figura 12. Estrutura da briostatina 1 22

Figura 13. Estrutura da episulosina 22

Figura 14. Estrutura da Zalypsis® 24

Figura 15. Estrutura da topsentina 24

Índice de tabelas

Tabela 1. Exemplos de compostos antibacterianos derivados de diferentes espécies de esponjas marinhas e respectivos espectros de ação. 10

Tabela 2. Exemplos de compostos antivirais derivados de diferentes espécies de esponjas marinhas e respectivos espectros de ação. 12

Tabela 3. Exemplos de compostos antimaláricos derivados de diferentes espécies de esponjas marinhas e respectivos espectros de ação. 13

Tabela 4. Exemplos de compostos com ação cardiovascular derivados de diferentes espécies de esponjas marinhas e respectivos modos de ação. 15

Introdução

Os Oceanos e mares constituem mais de 70% do planeta Terra (1), representando o maior habitat da Terra e um recurso prolífico de organismos com alta diversidade biológica e química (2) (3). Desta enorme área, menos de 5% do fundo do mar foi explorado de alguma forma e menos de 0,01% foi estudado em detalhe. (2) Esta exploração, devido a limitações técnicas, começou pela colheita de organismos como algas vermelhas, esponjas, corais, que mostraram possuir uma grande variedade de compostos com estruturas químicas únicas. Mais tarde, a atenção voltou-se para microrganismos como cianobactérias, fungos e bactérias, tendo aumentado muito a diversidade estrutural dos compostos de origem marinha (4). Como se pôde verificar nestas primeiras explorações, os organismos marinhos mostraram-se potenciais fontes de compostos bioativos. (5) O tipo de habitat, competitivo e agressivo, muito diferente do ambiente terrestre, exige a produção de moléculas ativas potentes, incluindo ácidos gordos polinsaturados (PUFA), polissacarídeos, minerais e vitaminas, enzimas e péptidos bioativos. (3) Além de estruturas peculiares, os produtos naturais marinhos possuem uma extraordinária diversidade de alvos moleculares com seletividade marcante, o que aumenta sobremaneira o potencial farmacológico e terapêutico dessas moléculas.(1)

Os produtos naturais tem sido uma fonte tradicional de medicamentos, e ainda hoje é considerado o fornecimento mais bem-sucedido de potenciais fármacos com mais de 1 milhão de novos compostos químicos descobertos até agora. São geralmente moléculas pequenas, com um peso molecular inferior a 3000 Da (4), cuja ocorrência pode ser limitada a um grupo taxonómico particular, ou mesmo a uma única espécie. São frequentemente chamados de metabolitos secundários porque não são biossintetizados pelas vias metabólicas principais ou são subprodutos destas e não desempenham uma função primária, como crescimento, desenvolvimento ou reprodução normal de um organismo. Geralmente, estão envolvidos nas relações bióticas e abióticas dos organismos e entre estes e o meio ambiente, pois são usados na defesa contra predação, competição por espaço e alimento, comunicação entre espécies para fins de acasalamento, caça, entre outras funções.(1)

O produto marinho mais antigo relatado foi o corante púrpura tíria, extraído de moluscos marinhos pelos fenícios, cerca de 1600 AC. Inicialmente, a exploração de produtos naturais marinhos concentrou-se em metabolitos de peixes e algas marinhas. São exemplos os biopolímeros marinhos como agar e carragenina, as vitaminas A e D do óleo de fígado de peixe ou ácidos gordos polinsaturados como o ácido eicosapentaenóico e o ácido docosahexanóico. (3)

O desenvolvimento de fármacos de origem marinha começou com a descoberta da espongotimidina e da esponjigidina na década de 1950, a partir da esponja *Tethya crypta*. A

cefalosporina C, produzida pelo fungo *Acremonium chrysogenum*, isolado das amostras de água do mar do Mediterrâneo, perto da Sardenha, na década de 1940, foi o ponto de partida para o desenvolvimento da classe de antibióticos de cefalosporinas. (3)

Devido ao amplo painel de bioatividades, como antibacterianos, analgésicos, anti-inflamatórios, antimaláricos, anticancerígenos, antiparasitários, antivirais, antiproliferativos e fotoprotetores (6), os produtos naturais marinhos são compostos de alto valor, extremamente interessantes para aplicações na indústria farmacêutica. Seguindo a mesma tendência, a indústria de cosméticos está também a direcionar-se para o mar em busca de novos produtos. (4)

Os micro-organismos marinhos tiveram implicações revolucionárias nos estudos com produtos naturais, não apenas pela diversidade química, mas, principalmente, pela perspectiva de sustentabilidade, associada à possibilidade de fermentação para produção de quantidade suficiente para as etapas pré-clínicas e clínicas do desenvolvimento de fármacos. (1)

Embora um grande número de novos compostos tenha já sido isolado de organismos marinhos e muitas destas substâncias tenham uma atividade biológica reconhecida, até agora poucos foram comercializados como produtos farmacêuticos. Alguns compostos com propriedades citotóxicas foram ou estão a passar por várias fases de ensaios clínicos e, portanto, têm a perspectiva de serem novos produtos farmacêuticos. (6) Atualmente, com as novas ferramentas de biologia molecular e tecnologia avançada de análise estrutural, o potencial dos organismos marinhos pode ser usado como fonte direta de novos compostos para tratamento de doenças ou como fornecedores de moléculas modelo, cujas estruturas podem ser modificadas para obtenção de novos compostos por síntese química. (6)

Esta monografia tem como objetivo compreender o estado atual do uso de fármacos de origem marinha e perspectivas de utilização para o futuro. Será feita referência à diversidade de organismos marinhos, grupos de compostos, processos extrativos, aplicações e perspectivas futuras, motivos que levam a indústria farmacêutica a eleger estes compostos como uma área de futuro.

Metodologia

A recolha bibliográfica que deu suporte à presente monografia decorreu ao longo de sete meses. Numa primeira fase, procedeu-se à averiguação da bibliografia disponível em suporte físico sobre o tema, ou seja, com recurso a livros, relatórios e teses disponíveis, principalmente na biblioteca da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa (FFULisboa). Nesta fase efetuou-se, sobretudo, um enquadramento geral sobre o tema, referenciando a taxonomia e caracterização de organismos marinhos, bem como a sua distribuição geográfica. A segunda fase do trabalho foi dedicada, ao tema principal da monografia – Organismos Marinhos como Fonte de Novos Fármacos – recorrendo, para isso,

à consulta de um conjunto artigos científicos, publicados *online*, através da sua pesquisa em diversas bases de dados informáticas, designadamente: PubMed, Google Scholar. As palavras chave pesquisadas foram “marine organisms”, “marine drugs”, “natural marine products”. As fontes informáticas incluídas na investigação dizem respeito a artigos publicados *online* ou em revistas e jornais de diversas especialidades, designadamente na área da farmácia, medicina e ciências em geral, que abordam o tema nas suas mais variadas vertentes. Foram apenas tidas em consideração as fontes que se encontravam acessíveis na sua totalidade e que, diretamente, estavam relacionadas com o objeto de estudo. Na recolha bibliográfica de teses e artigos científicos procedeu-se a uma exclusão das fontes com data anterior ao ano de 2009.

Farmacologia de fármacos de origem marinha

O habitat marinho tem condições ambientais muito diversificadas e complexas, o que permite encontrar uma enorme biodiversidade que compreende, entre outros, bactérias, cianobactérias, protozoários, fungos, algas, esponjas, corais, bivalves, moluscos, peixes e mamíferos aquáticos. Em muitos deles podemos isolar metabolitos com estruturas muito diferentes das encontradas nos seres vivos do habitat terrestre, o que lhes confere especificidade no desempenho da sua atividade e um potencial inovador no desenvolvimento de novos fármacos.

Embora a maioria dos fármacos seja derivada de fontes terrestres, um número considerável de compostos, candidatos a medicamentos e outros metabólitos de organismos marinhos, foram identificados nos últimos anos. Cerca de 30.000 compostos de origem marinha são conhecidos e, desde 2008, mais de 1.000 compostos são descobertos a cada ano, sendo frequentemente caracterizados por novidade estrutural, complexidade e diversidade.⁽³⁾ Um exemplo particular são os péptidos marinhos, isolados de algas, onde encontramos resíduos e sequências de aminoácidos muito pouco vulgares. Os péptidos bioativos marinhos podem ser produzidos por um de três métodos tais como extração com solvente, hidrólise enzimática e fermentação microbiana de proteínas alimentares. Dependendo da sequência de aminoácidos, podem estar envolvidos em várias funções biológicas, tais como atividades anti-hipertensivas, agonistas opióides ou antagonistas, imunomoduladoras, antitrombóticas, antioxidantes, anticancerígenas e antimicrobianas.⁽³⁾ Passamos a referir uma seleção das principais atividades.

Atividade antibacteriana

O facto de nos últimos anos se terem verificado infeções bacterianas resistentes a antibióticos, fez com que fosse necessário o desenvolvimento rápido de novas classes de

antibióticos, de modo a resolver este problema de larga escala. É então necessária investigação, melhoria de novos antibióticos e procura de alternativas. (7)

Os extratos brutos de esponjas marinhas demonstraram uma baixa atividade antibacteriana contra bactérias marinhas. No entanto, têm um elevado nível de atividade antibacteriana contra bactérias terrestres. Os testes antimicrobianos de extratos brutos de esponjas do Ártico, contra bactérias associadas a infeções oportunistas, mostraram que cerca de 10% das esponjas apresentam atividade antimicrobiana significativa, com valores de IC50 de 0,2 a 5 µg/mL. Todos os anos, várias moléculas que contêm propriedades antibióticas são introduzidas, estando as esponjas no topo dessas. (7) Na tabela 1, estão apresentados vários exemplos de substâncias com atividade antimicrobiana derivadas de diferentes espécies de esponjas marinhas.

Na hemolinfa de muitos organismos marinhos invertebrados, como aranha do mar, ostra, lagosta americana, camarão, ouriço do mar verde e caranguejo azul (*Callinectes sapidus*), foram descritos péptidos antimicrobianos, mostrando atividade inibitória contra bactérias gram-negativas em alguns deles. Foi ainda reportada atividade antimicrobiana em péptidos do plasma seminal do caranguejo da lama (*Scylla serrata*). Os péptidos derivados da lagosta americana (*Homarus americanus*) mostraram atividade bacteriostática contra algumas bactérias gram-negativas e atividade protozoostática e protozoicida contra parasitas *Mesanoophrys chesapeakeensis* e *Anophryoides haemophila*, este último um significativo patógeno de *H. americanus*. Outro péptido antimicrobiano, arasin 1, derivado da aranha do mar (*Hyas araneus*), foi detetado como inibidor do crescimento de *Corynebacterium glutamicum*. Na ostra (*Crassostrea gigas*), foi encontrado o péptido CgPep33, com atividade antimicrobiana e inibição de crescimento de bactérias, como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, e fungos como *Botrytis cinerea* e *Penicillium expansum*. (5)

A investigação na área dos antibióticos derivados de organismos marinhos está a crescer e estão a ser já desenvolvidos vários ensaios clínicos. (8)

Tabela 1. Exemplos de compostos antibacterianos derivados de diferentes espécies de esponjas marinhas e respetivos espectros de ação. (7)

Substância	Química	Espécie	Espectro de ação
Discoderminas B, C e D	Péptido cíclico	<i>Discodermia kiiensis/Lithistida</i>	<i>B. subtilis</i>
Arenosclerinas A-C	Alcalóide alquil-piperidina	<i>Arenosclera brasiliensis</i>	<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>M. tuberculosis</i>
Haliclona ciclamida E	Alcalóide alquil-piperidina	<i>Arenosclera brasiliensis</i>	<i>S. aureus</i> , <i>P. aeruginosa</i>
CvL	Lectina	<i>Cliona varians</i>	<i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i>

Axinelaminas B-D	Alcalóide imidazo-azolo-imidazol	<i>Axinella</i> sp. / <i>Halichondrida</i>	<i>H. Pylori</i> , <i>M. Luteus</i>
Caminosidos A-D	Glicolípidos	<i>Caminus sphaeroconia</i>	<i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i>
6-hidroxi manzamina E	Alcalóide	<i>Acanthostrongylophora</i> sp.	<i>M. tuberculosis</i>
Cribostatina 3	Alcalóide	<i>Cribrochalina</i> sp.	<i>N. gonorrhoeae</i> (estirpe resistente a antibióticos)
Cribostatina 6	Alcalóide	<i>Cribrochalina</i> sp.	<i>S. pneumoniae</i> (estirpe resistente a antibióticos)
Ácido isoaspico, cacospongina D, jaspaginol	Meroditerpenos	<i>Cribrochalina</i> sp.	<i>S. epidermidis</i>
Isoaaptamina	Alcalóide	<i>Aaptos aaptos</i>	<i>S. aureus</i>
(-)-Microcionina-1	Terpenóide	<i>Fasciospongia</i> sp.	<i>M. Luteus</i>

Atividade antiviral

Os produtos naturais derivados de organismos marinhos desempenham também um papel muito importante no desenvolvimento de substâncias com atividade antiviral. Foram feitas modificações hemi-sintéticas ao nucleósido espongouridina que originaram drogas antivirais como a vidarabina, aciclovir e zidovudina. (9)

Existe uma variedade de compostos com atividade antiviral provenientes de esponjas marinhas, tal como apresentado na tabela 2. Estes são sempre metabolitos secundários, os quais possibilitam e/ou modulam a comunicação e defesa celular. O composto mais importante neste âmbito é o nucleósido Ara-A (vidarabina), proveniente da esponja *Tethya crypta*. A vidarabina inibe a DNA (ácido desoxirribonucleico) polimerase viral e a síntese de DNA do herpes vírus, vaccínica vírus e varicella zoster vírus (10). Para o tratamento alternativo da Hepatite C, foram desenvolvidos fármacos a partir de extratos de *Bacillus* sp. isolados da esponja *Petromica citrina*. *Norbatzelladine* L. (*Monanchora*) apresentou atividade antiviral contra o vírus Herpes Simplex tipo 1 (HSV-1), com 97% de inibição na fase de adsorção viral. O alcalóide bis-indólico fascaplisina, derivado de uma esponja, exibiu bioatividade antimicrobiana, antifúngica, antiviral, anti-HIV-1-RTase, inibição da p56 tirosina cinase, antimalárica, anti-angiogénica, antiproliferativa contra várias linhas de células cancerígenas, inibição específica de cinase-4 ciclina-dependente e ação de intercalador de DNA. Avarol (Figura 1), avarona (Figura 2) e ilimaquinona são metabólitos de esponjas que estão designados para quimioterapia e demonstraram atividade anti-HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana) significativa. (11) O avarol e a avarona foram isolados da esponja *Disidea avara* e

apresentam índices terapêuticos elevados e a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica. (6)

Num estudo, foi descoberto que extrato proteico de ostra pode aumentar a proliferação de imunócitos no HIV-1. Foram isolados dois péptidos, Leu-Leu-Glu-Tyr-Ser-Ile e Leu-Leu-Glu-Tyr-Ser-Leu, que inibem a HIV-1 protease a partir da termolisina hidrolisada da ostra. O péptido Arg-Arg-Trp-Trp-Cys-Arg-X (onde X é um aminoácido ou um aminoácido análogo) é ativo contra herpes vírus, isolado também a partir da termolisina hidrolisada da ostra. (5)

Existem vários tipos de algas que apresentam diferentes tipos de polissacáridos. O grau de sulfatação de polissacáridos de algas é importante, pois quanto mais baixo esse grau, menor será a atividade antiviral. *Fucus vesiculosus* é uma alga castanha que apresenta atividade antiviral contra HIV. A fucoidina é o polissacárido sulfatado mais abundante nesta alga. Várias espécies de algas marinhas apresentam atividade anti-HIV. Por exemplo, *Grateloupia filicina* e *Grateloupia longifolia* produzem galactonas sulfatadas, e *Lobophora variegata*, alga castanha, produz fucanos sulfatados. Polissacáridos sulfatados isolados de *Sargassum patens*, alga castanha, mostraram atividade contra o vírus Herpes Simplex 1.(12)

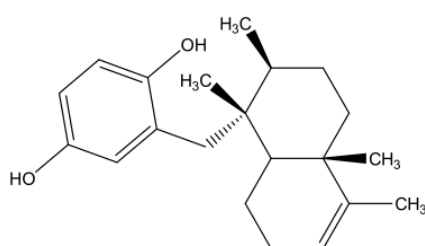


Figura 1. Estrutura do Avarol (6)

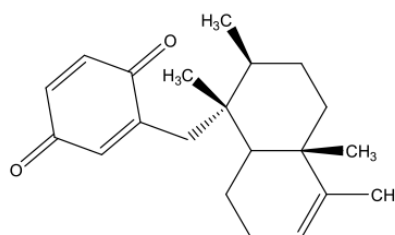


Figura 2. Estrutura da Avarona (6)

Tabela 2. Exemplos de compostos antivirais derivados de diferentes espécies de esponjas marinhas e respectivos espectros de ação.(7)

Substância	Química	Espécie	Espetro de ação
4-Metilaaptamina	Alcalóide	<i>Aaptos aaptos</i>	Antiviral (HSV-1)
Papuamidas A-D	Depsipéptido cíclico	<i>Theonella</i> sp.	Antiviral (HSV-1)
Ara-A	Nucleósido	<i>Cryptotethya crypta</i>	HSV-1, HSV-2, VZV
Avarol	Hidroquinona sesquiterpénica	<i>Dysidea avara</i>	HIV-1, supressor de UAG supressor; inibidor da tRNA glutamina
Haplosamatos A e B	Esteróide sulfatado	<i>Xestospongia</i> sp./ <i>Haplosclerida</i>	Antiviral (inibidor da HIV-1 integrase)
Dragmacidina F	Alcalóide	<i>Halicortex</i> sp.	HIV-1
Hamigerano B	Macrólido fenólico	<i>Hamigera tarangaensis</i>	Antiviral (herpes e polio virus)

Micalamida A-B	Nucleósido	<i>Mycale</i> sp.	A59 coronavírus, HSV-1
Mirabamidas A, C e D	Péptido	<i>Siliquariaspongia mirabilis</i>	Antiviral (HIV-1)
Oroidina	Alcalóide	<i>Stylissa carteri</i>	Antiviral (HIV-1)

Propriedades antimaláricas

O parasita *Plasmodium falciparum* tornou-se resistente à cloroquinona, pirimetamina e sulfadoxina. *In vitro*, a actividade antimalárica seletiva contra *P. falciparum* foi registada por diferentes isonitrilese, isotiocianetos e isotiocianetos terpenóides provenientes de *Cymbastela hooperi*. A manzamina A foi descrita por ter atividade potente contra *P. falciparum* (7), sendo considerada o alcaloide antimalárico mais importante e potente derivado de organismos marinhos. (6) Para além deste composto, foram descobertas outras substâncias em diferentes espécies de esponjas marinhas, como apresentado na tabela 3, também com ação contra o *P. falciparum* e ainda contra *T. gondii*, o parasita responsável pela toxoplasmose.

A tsitsikammamina C (*Zyzya* sp. - esponja) é um novo alcalóide bispirrolo-iminoquinona que inibe as fases de anel e trofozoíto do ciclo de vida do parasita da malária. (11)

Tabela 3. Exemplos de compostos antimaláricos derivados de diferentes espécies de esponjas marinhas e respetivos espectros de ação. (7)

Substância	Química	Espécie	Espectro de ação
Monamflectina A	β -lactâmico antimalárico	<i>Hymeniacidon</i> sp	<i>P. falciparum</i>
Manzamina A	Alcalóide	<i>Haliclona</i> sp./ <i>Haplosclerida</i> <i>Cymbastela hooperi</i> / <i>Halichondrida</i> <i>Diacarnus levii</i> / <i>Poecilosclerida</i>	<i>T. gondii</i> , <i>P. berghei</i> , <i>P. falciparum</i>
Kalihinol A	Diterpeno	<i>Acanthella</i> sp./ <i>Halichondrida</i>	<i>P. falciparum</i>
Diisocianoacido	Diterpeno tetracíclico	<i>Cymbastela hooperi</i>	<i>P. falciparum</i>
Halicondramina	Macrólido		<i>P. falciparum</i>
Sigmatosporina B	Ácido norsesterterpeno	<i>Diacarnus erythraeanus</i>	<i>T. gondii</i> , <i>P. falciparum</i>
(E)-Oroidin	Alcalóide	<i>Agelas oroides</i>	<i>P. falciparum</i>

Atividade anti-inflamatória

O processo de inflamação é causado por um dano físico ou químico, ou ainda por uma infecção. Neste último caso, o sangue sai dos vasos sanguíneos para os tecidos. Este processo encontra-se descrito na figura 3.

A manolida foi o primeiro anti-inflamatório sesterterpenoide derivado de esponjas marinhas com várias propriedades farmacêuticas. O mecanismo de ação de substâncias anti-inflamatórias derivadas de esponjas é diferente de outros anti-inflamatórios não esteroides (AINEs). (7)

A carragenina isolada a partir de algas marinhas vermelhas apresenta atividade anti-inflamatória, tendo um uso potencial na estimulação do sistema imunitário e regulador de macrófagos. (13)

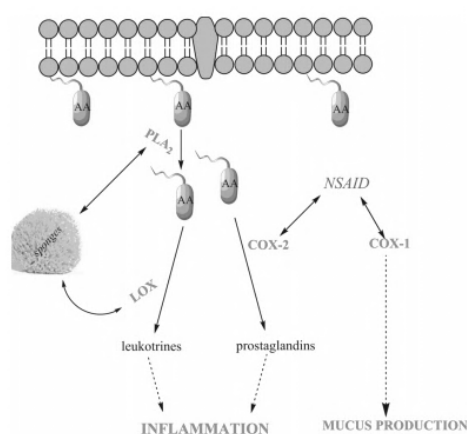


Figura 3. Processo da cascata inflamatória no interior da célula. A fosfolipase A2 (PLA2) catalisa a liberação de ácido araquidônico (AA) ligado à membrana para libertar o ácido araquidônico. Este é então convertido em leucotrienos e prostaglandinas pela lipoxigenase (LOX) e ciclooxigenase-2 (COX-2), respectivamente. As substâncias anti-inflamatórias derivadas de esponjas marinhas são principalmente inibidoras da PLA2 ou LOX, enquanto os compostos com atividade anti-inflamatória não esteroide (AINE) inibem a COX-2, mas também a COX-1 constitutiva. (7)

Atividade imunossupressora

Dysidea, um género de esponja encontrada no norte de Austrália, onde foram isoladas várias biomoléculas, caso de esteroides 3 polioxigenados, com uma capacidade seletiva e forte de bloquear a ligação de interleucinas (IL-8), uma citocina que atrai neutrófilos no local de lesão no tecido, para o receptor IL-8. Estes esteroides polioxigenados têm inibição seletiva específica na resposta imunitária primária. Correspondentemente, a pateamina A, isolada em *Mycale* sp., é um inibidor seletivo da produção de interleucina 2 (IL-2). A IL-2 ajuda na ativação de células B e T, causando uma reação antígeno-anticorpo e produzindo uma resposta imunitária secundária. (7)

Polissacáridos isolados a partir de *Enteromorpha intestinalis* têm a capacidade de aumentar a taxa de produção de linfócitos B e T e efeitos na produção de IL-2 e interferão-alfa (INF- α). (13)

Agentes cardiovasculares

A cicloteonamida A, isolada a partir da esponja marinha *Theonella* sp., é uma classe pouco usual de inibidores de serina protease (uma enzima responsável pela conversão de fibrinogénio em fibrina) e é uma substância ativa de escolha para a trombose. A erilosida F, derivada de *Eryltus formosus* sp., foi descoberta como um antagonista potente do recetor de trombina. Este recetor tem um papel fundamental não só na trombose, mas também como agente principal para a causa da aterosclerose. (7) Na tabela 4, encontra-se ainda referência a haliclorina, também derivada de uma esponja, com ação cardiovascular.

Os péptidos bioativos marinhos com atividade anticoagulante foram raramente reportados, mas foram isolados a partir de organismos marinhos como o verme marinho *Echiuroid*, estrelas-do-mar e mexilhões azuis. A atividade anticoagulante dos péptidos supramencionados foi determinada por ensaios de prolongamento do tempo de tromboplastina parcial ativada, tempo de protrombina e tempo de trombina, e a atividade foi comparada com a heparina, um anticoagulante já em comercialização. (5)

A *Porphyra yezoensis* é uma alga marinha vermelha que contém porfirano. Os compostos desta alga podem ser usados como agentes anti-hiperlipidémicos e podem estimular a síntese de lípidos em células do fígado humano. (13)

Em 2004, a FDA (*Food and Drug Administration*) aprovou ésteres etílicos de ácidos gordos ómega 3 (*Lovaza*®) (9) (4), derivados de organismos marinhos, para o tratamento da hipertrigliceridemia, um fator de risco importante para a doença cardíaca coronária. *Lovaza*® inibe as enzimas que sintetizam triglicéridos, o que resulta na diminuição da síntese e níveis plasmáticos de triacilgliceróis. (9)

Tabela 4. Exemplos de compostos com ação cardiovascular derivados de diferentes espécies de esponjas marinhas e respetivos modos de ação. (7)

Substância	Química	Espécie/ordem	Modo de ação
Cicloteonamida A	Pentapéptido cíclico	<i>Theonella</i> sp./Lithistida	Inibidor da serina protease
Erilosido F	Dissacárido de penasterol	<i>Eryltus formosus</i> /Astrophorida	Antagonista do recetor de trombina
Haliclorina	Policétido aza cíclico	<i>Halichondria okadae</i> /Halichondria	Inibidor de VCAM 1 (molécula de adesão vascular celular)

Atividade analgésica

O ziconotídeo ou ω -conoxina MVIIA (Figura 4) é um péptido sintético, com ação analgésica, isolado a partir do veneno de *Conus magus* (10), um molusco marinho. (1) (6) As toxinas de *Conus* sp. têm sido estudadas para variadas aplicações medicinais por serem

usadas por estes organismos para paralisar as suas presas. Este composto bloqueia, em concentrações picomolares, os canais de cálcio do tipo N das fibras nociceptivas tipo A-δ e tipo C nas lâminas I e II da raiz dorsal do cordão nervoso de mamíferos. O ziconotídeo é mil vezes mais potente que a morfina e o tratamento com esta substância não induz tolerância após uso crónico, porque não leva à diminuição do número de recetores nem dessensibilização. (1) Em 2014, foi aprovado para doentes com dor crónica severa, incluindo dor neuropática. A eficácia contra dor maligna e não-maligna tem vindo a ser demonstrada em vários estudos clínicos. Relativamente a efeitos adversos, os tratamentos com ziconotídeo provocam náuseas, confusão e tonturas. Não deve então ser administrado a doentes com sintomas psiquiátricos e neurológicos. Para além das ω-conoxinas, outras conotoxinas e seus derivados possuem atividades de interesse farmacológico, sendo uma área promissora para o desenvolvimento de fármacos. (3)

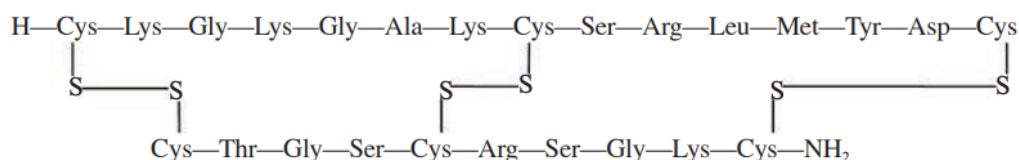


Figura 4. Estrutura do ziconotídeo (9)

Atividade antioxidante

Foram analisadas espécies de quatro géneros de esponjas: *Smenispongia* (SP1), *Calispongia* (SP2), *Niphates* (SP3) e *Stylissa* (SP4), colhidas do Mar Vermelho na costa egípcia. Os extratos de esponja mostraram efeitos inibitórios em índices de stress oxidativo e enzimas hidrolisantes de hidratos de carbono, em relação linear com a concentração de inibidores (dose dependentes), mostrando ainda potente poder redutor. Derivados de indol, alcalóides aromáticos, policétidos aromáticos e compostos fenólicos apresentaram forte poder antioxidante, comparativamente à vitamina E e ácido ascórbico. Estas descobertas foram bastante atrativas pelo facto dos micróbios destas esponjas poderem ser cultiváveis, e por haver possibilidade de se produzirem compostos em larga escala. Noutro estudo em esponjas das Caraíbas, *Pandaros acanthifolium*, estas mostraram atividade antioxidante e citoprotetora, por conterem glicosídeos esteroides isolados. (11)

Péptidos derivados de diferentes proteínas hidrolisadas marinhas atuam como potenciais antioxidantes e têm sido isolados de diferentes tipos de organismos marinhos como lula jumbo, ostra, mexilhão azul, bacalhau, pescada do pacífico, atum, capelim, cavala, peixe-cabra do Alasca, solha de barbatana amarela, e microalgas. Os efeitos benéficos de péptidos bioativos marinhos são conhecidos na eliminação de radicais livres e espécies reativas de

oxigênio ou na prevenção do dano oxidativo através da interrupção da reação de peroxidação lipídica na cadeia radicalar. (5)

Atividade antitumoral

As doenças cancerígenas estão entre as três principais causas de morte, o que aumenta a necessidade de novas substâncias antitumorais com elevada atividade e efeitos adversos minimizados. Os compostos naturais marinhos podem contribuir para esta procura de uma forma bastante positiva. (3) A grande maioria dos alvos identificados apresentam-se como relevantes no tratamento de carcinomas e é exatamente no estudo e na terapêutica dessas doenças que podemos visualizar o maior impacto das substâncias de origem marinha. (1)

A partir de esponjas marinhas, foram isolados compostos com atividade antitumoral, podendo ser classificados como inibidores não-específicos, inibidores específicos e inibidores de certos tipos de células cancerígenas. Os antitumorais inibidores não-específicos têm importância no tratamento de doenças cancerígenas, mas podem também ter efeitos tóxicos nas células saudáveis. Um exemplo são os adociasulfatos (hidroquinonas triterpenóides), isoladas da *Haticlona* sp., que são inibidores de proteínas por ligação ao sítio de ligação dos microtúbulos, que "bloqueiam" a função motora da proteína e bloqueiam a divisão celular. Os antitumorais inibidores específicos são especificamente ativos contra o tumor. Por exemplo, o agosterol A, derivado de uma esponja marinha, consegue reverter o aparecimento de glicoproteínas nas membranas, que são responsáveis pela multirresistência a fármacos nas células do carcinoma humano. Os compostos ativos inibidores de crescimento contra a linhagem de células tumorais têm vindo a ser isolados, mas os seus mecanismos de ação são ainda desconhecidos. (7)

A aprovação de fármacos derivados de organismos marinhos começou com o ziconotídeo, péptido originário de um caracol de cone marinho tropical, para o tratamento da dor crónica na lesão medular. Em 2007, a trabectedina (Figura 5), proveniente de um ouriço-do-mar tropical (*Ecteinascidia turbinata*), foi aprovada na União Europeia para o tratamento do sarcoma de tecidos moles.(11) Sendo um alcaloide antineoplásico (4), possui um mecanismo de alquilação que difere da maioria de outros agentes alquilantes, pois liga-se à guanina em sequências específicas de bases nas fendas menores da dupla hélice, causando uma dobra nas cadeias de DNA. Este dobramento provoca a desorganização do citoesqueleto, bloqueio da divisão celular e interferência no reconhecimento e ligação normal de fatores de transcrição ou proteínas ligantes ao DNA, o que provoca ativação ou inibição de determinados genes. (1) A trabectedina é eliminada através do metabolismo hepático, pelo

que são necessários ajustes à terapêutica em casos de insuficiência hepática e casos de mielosupressão. (3)

Nos últimos anos, tem havido vários candidatos a compostos naturais marinhos em processo de ensaios clínicos em fases I a III para o tratamento de vários tipos de cancro. Os compostos provenientes de esponjas são os seguintes: discodermolida, hemiasterlinas A e B, halidocondrina B modificada, KRN-70000, alipkinidine (alcalóide), fascaphysins (alcalóide), isohomohalichondrin B, halicondrina B, laulimalida/fijianolida, 5-methoxiamfimedina (alcalóide) e variolina (alcalóide). (11)

Um composto natural proveniente de esponjas com uma atividade anticancerígena promissora é renieramicina M. Os estudos pré-clínicos revelaram que este composto induz a apoptose de células cancerígenas do pulmão dependente de p53, e também poderá inibir a progressão e metástases das mesmas células. Monanconidina (*Monanchora pulchra*) é um alcalóide guanidina policíclico que induz a morte de células na Leucemia Mieloide e cancro do útero. Espongistatina 1 (*Spongia* sp.) demonstrou que inibe a mitose, microtúbulos, e a ligação de vimblastina à tubulina assim induzindo a morte citotóxica de células em numerosas linhas de células cancerígenas. Outro composto com atividade tumoral é a heteronemina, um sesquiterpeno marinho isolado a partir da esponja *Hyrtios* sp., especialmente pelos seus efeitos na Leucemia Mieloide Crónica. (11)

Os nucleósidos derivados da esponja *Tectitethya crypta* foram usados como modelo para a síntese de análogos como a citarabina ou Ara-C (Figura 6), a substância ativa de Cytostar-U®. (9) O Ara-C foi o primeiro derivado marinho agente anticancerígeno usado para o tratamento da leucemia e linfoma (11), aprovado para uso medicinal em 1972. (3) Este nucleósido de pirimidina trata-se de um profármaco que é convertido intracelularmente em citosina arabinósido trifosfato, que compete com o substrato fisiológico deoxicitidina. Seguidamente, decorre a inibição da DNA polimerase e depois a inibição da DNA sintetase. A dose de Ara-C depende do tipo e estadió da doença, e apresenta efeitos adversos a nível gastrointestinal. (3) A citarabina está atualmente disponível na forma convencional ou lipossomal (Depocyt®), sendo esta última indicada para o tratamento intratecal da meningite linfomatosa. (10)

A halicondrina B (Figura 7), um poliéter macrocíclico, obtida a partir de várias espécies de esponjas marinhas, como a *Halichondria okadai*, *Axinella* spp., e *Phakellia* spp., foi também usada como modelo para o desenvolvimento de fármacos anticancerígenos. A síntese química de halicondrina B permitiu a descoberta do análogo simplificado, mesilato de eribulina (Figura 8), aprovado em 2010 e comercializado para quimioterapia do cancro da mama avançado metastático (9) (4), em doentes que fizeram previamente pelo menos dois tratamentos de quimioterapia para a doença avançada. O mecanismo do mesilato de eribulina influencia, de uma maneira complexa, a dinâmica dos microtúbulos, inibindo a fase de

crescimento destes e sequestrando a tubulina em agregados não-produtivos. Isto provoca a paragem do ciclo celular em G2/M, disrupção do fuso mitótico e morte celular por apoptose. Os efeitos adversos deste composto são essencialmente astenia ou fadiga e neutropenia. (3)

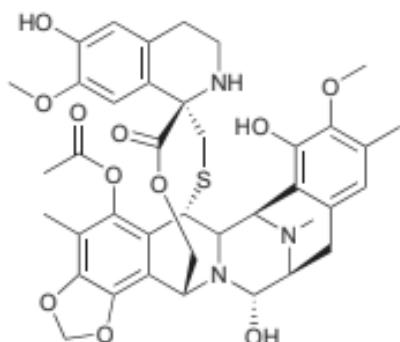


Figura 5. Estrutura da trabectedina (3)

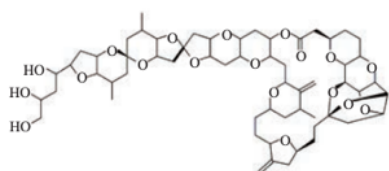


Figura 7. Estrutura da halicondrina B (9)

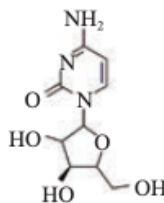


Figura 6. Estrutura da citarabina ou Ara-C (9)

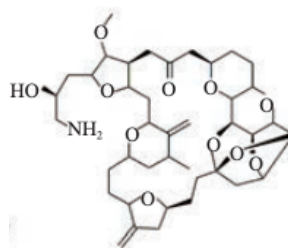


Figura 8. Estrutura do mesilato de eribulina (9)

Aplicações Futuras

Graças a avanços na investigação e exploração dos organismos marinhos, atualmente, existem vários compostos em fase de ensaios clínicos, no sentido de aumentar o número de alternativas, e até substituir fármacos que já são ineficazes devido a resistências. Neste sentido, os compostos com possível atividade em doenças crónicas e/ou doenças sem tratamento, são os mais estudados e com maior perspectiva de novos fármacos.

A metil éter pseudopterosina A (conhecida por VM301), um hemi-derivado sintético da pseudopterosina A, um glicosídeo diterpénico isolado a partir do coral mole *Pseudoptero-gorgia elisabethae*, apresentam propriedades anti-inflamatórias e cicatrizantes. Num estudo de fase II *double blind* de ensaios clínicos, a pseudopterosina aumentou a re-epitelização e acelerou o processo de cicatrização de feridas. (9) As pseudopterosinas derivadas do coral *P. elisabethae* têm também potencial na área cosmética, nomeadamente com ação protetora de raios solares e anti-irritação, devido às suas propriedades acima descritas. (15) Já foi descrita a síntese total de análogos de pseudopterosina, e espera-se o desenvolvimento de novos derivados de pseudopterosina nos próximos anos. (9)

A aplidina, isolada da ascídia mediterrânea *Aplidium albicans*, é um depsipéptido cíclico semelhante à didemnina B (1), tal como se pode observar na figura 9. As didemninhas

são uma família de depsipéptidos cíclicos isolados do tunicado das Caraíbas *Trididemnum solidum*. Além da atividade antitumoral, apresentaram potentes propriedades antivirais em ensaios realizados *in vitro* e *in vivo*. Entretanto, apesar de sua importante atividade antiviral, a didemnina B 11 possui baixa seletividade e índice terapêutico, pois é citotóxica e inibe a síntese de proteínas, DNA e RNA (ácido ribonucleico) das células nas mesmas concentrações que inibem o crescimento do vírus. A partir de 1986, a didemnina B foi submetida a ensaios clínicos (fase I e II), mas os testes foram interrompidos devido a efeitos colaterais tóxicos substanciais. (9) A aplidina apresenta vantagens em relação à didemnina B por ter menor toxicidade, devido a uma simples oxidação do radical 2-hidroxiopropanoil a 2-oxopropanoil. O mecanismo de ação deste novo composto é bastante peculiar e envolve várias vias que levam à apoptose (morte celular programada sem processo inflamatório), não estando ainda completamente esclarecido. Os seus efeitos atuam no bloqueio da divisão celular (devido à inibição da síntese de DNA e proteínas) e no enfraquecimento da angiogénese tumoral, tendo, *in vivo*, demonstrado uma redução drástica no volume de diversos tumores, inclusive daqueles resistentes à didemnina B. De um modo geral, o tratamento com aplidina tem sido bem tolerado e a toxicidade neuromuscular, que constitui a principal limitação deste tratamento (10), pode ser contornada com a coadministração de L-carnitina. De ressaltar que neste tratamento raramente se verificam efeitos secundários associados à quimioterapia, como a mucosite, alopecia e mielossupressão. Encontra-se em fase 2 para tumores sólidos e hematológicos como terapia única e em fase 1 para terapia combinada com outros quimioterápicos e para o tratamento de leucemias pediátricas agudas. (1)

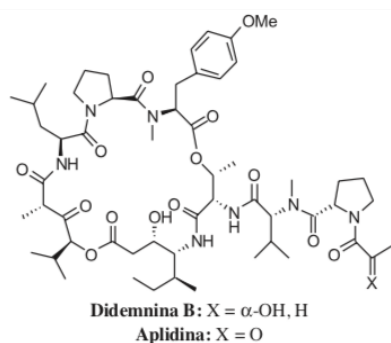


Figura 9. Estruturas da Didemnina B e da Aplidina (1)

Outra classe de péptidos importantes são as dolastatinas naturais e seus derivados, polipéptidos lineares encontrados em pequenas quantidades na lebre-do-mar *Dolabella auriculária* (Filo *Mollusca*), também produzidas por *Cyanobacteria* (4), e que agem em concentrações picomolares em diversos tipos de células tumorais, tendo ação antimitótica. Depois de estudos clínicos a dolastina 10 (Figura 10), soblidotina (TZZ-1027) e cemadotina (LU-103793) verificou-se que estes, apesar de serem bem tolerados e seguros, não apresentavam atividade antitumoral. No entanto, uma dolastatina de 3ª geração, a sintadotina

(Figura 11), tem apresentado bons resultados nos ensaios de fase I e continuará para a fase II, para o tratamento do melanoma e tumores sólidos recorrentes. Relativamente à toxicidade, a sintadotina foi considerada segura e bem tolerada, tendo sido relatados apenas efeitos colaterais de menor importância, como alopecia, náuseas, vômitos e fadiga. (1) A cemastodina (LU-103793) concluiu a fase II de ensaios clínicos para o melanoma. Anos mais tarde, um análogo sintético de dolastatina 10, monometil auristatina E 9 foi conjugado com um anticorpo e mostrou-se eficaz na terapia do cancro, especialmente no carcinoma colorretal. O anticorpo quimérico conjugado com monometil auristatina E recebeu o nome genérico de “brentuximab vedotin”. O imunoconjugado Brentuximab Vedotin (Adcetris®), um metabolito secundário de uma espécie *Symploca* de cianófito, foi aprovado nos EUA em 2011 para o tratamento de perturbações linfoproliferativas positivas para CD30 como o linfoma de Hodgkin (4). Subsequentemente, a aprovação foi dada na UE no final de 2012 e lançada no Reino Unido no início de 2013, também para leucemias positivas para CD30. Atualmente, este agente está em 37 estudos, principalmente nos EUA, da Fase 0 à Fase IV. (16) Glembatumumab vedotina (CDX011), PSMA-ADC e ABT-414 são outros conjugados de anticorpo e fármaco ligados às toxinas monometil auristatina E e monometil auristatina F 10 que atualmente estão em fase II de ensaios clínicos para tratamentos de doenças cancerígenas. (9)

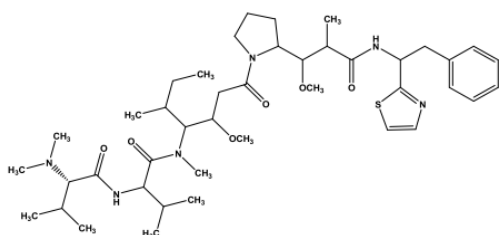


Figura 10. Estrutura da dolastatina 10 (6)

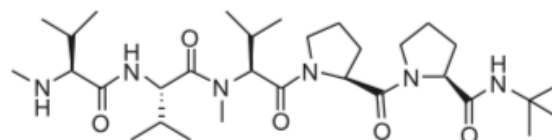


Figura 11. Estrutura da sintadotina (1)

A briostatina 1 (Figura 12), uma lactona macrocíclica, é considerada a molécula mais promissora da sua família, tendo sido isolada do briozoário *Bugula neritina* em 1970. De entre as diversas atividades estudadas, destacam-se a regulação da apoptose, sinergismo com outros quimioterápicos anticancerígenos, estimulação do sistema imunológico (1) e tratamento para doenças neurodegenerativas (17). Atualmente, o maior interesse dos estudos com a briostatina 1 é na quimioterapia anticancerígena, contando-se já com mais de 80 estudos clínicos de fase I ou II realizados ou em progresso (1), visto que tem como mecanismo de ação o desencadeamento da ativação e diferenciação de células do sangue periférico de doentes com leucemia linfocítica. (6) Esses estudos apresentaram, de uma forma geral, melhores resultados nas associações com outros fármacos do que nos esquemas de monoterapia. Alguns exemplos de estudos clínicos bem sucedidos com associação da briostatina 1 são com alcalóides isolados no género *Vinca* ou Ara-C, que demonstram respostas importantes no tratamento de leucemias em estudos de fase I, 50% de resposta

objetiva na associação com fludarabina em leucemia linfocítica crônica e linfoma não-Hodgking e, ainda, alta remissão, embora incompleta, com paclitaxel em pacientes com NSCLC (*Non-Small Cell Lung Carcinoma*) em estudos de fase II. O principal efeito secundário relatado é a mialgia, não obstante, na maioria dos casos, pode ser abordada pelas terapias convencionais. (1) A briostatina 1 encontra-se na fase I de ensaios clínicos para o tratamento do HIV, tendo mostrado um mecanismo semelhante à terapia antirretroviral altamente ativa. (2)

O mesilato de eribulina (E-7389) é um análogo sintético de um policétido natural, a halicondrina B. Possui uma estrutura mais simples, porém com a mesma potência do produto natural original. A baixa toxicidade é uma característica evidente nos estudos clínicos e, devido aos resultados positivos das fases I e II contra diversos tipos de tumores, os estudos de fase II para o cancro da mama têm boas expectativas, sustentadas, inclusive nas indicações pré-clínicas. A mielosupressão e neutropenia são os efeitos tóxicos de maior relevância, no entanto, a eribulina induz uma neurotoxicidade menos severa e menos frequente que os demais agentes conhecidos que atuam em microtúbulos. (1) Uma nova formulação lipossomal de mesilato de eribulina está atualmente em um ensaio clínico de fase I no Reino Unido. As áreas geográficas desses ensaios abrangem todo o mundo, mas a maioria está nos EUA e na Europa. (16)

A espisulosina (figura 13), inicialmente isolada do molusco *Mactromeris* (= *Spisula*) *polynyma* em 1999, é hoje produzida através de síntese e encontra-se em fase I de ensaios clínicos para doentes com tumores sólidos, sob licença da *PharmaMar*. A sua estrutura assemelha-se muito com a dos esfingolípídeos, lípidos complexos desprovidos de glicerol onde o álcool é a esfingosina. As células tratadas com espisulosina perdem a organização dos microfilamentos de actina e entram em apoptose por vias diferentes daquelas induzidas pelos esfingolípídeos naturais. Com estas semelhanças, acredita-se que a espisulosina tenha ação em receptores de esfingolípídeos que, por sua vez, modulam a atividade de proteínas RhoA. (1)

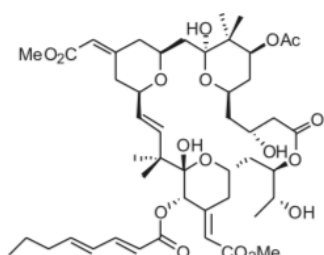


Figura 12. Estrutura da briostatina 1 (1)

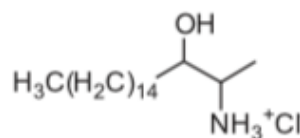


Figura 13. Estrutura da espisulosina (1)

Zalypsis® (Figura 14) é uma nova entidade química, de síntese completa, mas baseada em produtos naturais marinhos. Na etapa pré-clínica, Zalypsis® demonstrou uma potente atividade citotóxica *in vitro*, tendo sido testado contra uma variedade de linhagens celulares humanas derivadas de tumores sólidos ou hematológicos e apresentando

concentrações inibitórias na casa de pico ou nanomolar. Para além disso, Zalypsis® 50 foi igualmente potente contra as linhagens MM1R e RPMI-LR5, selecionadas pela sua resistência aos tratamentos convencionais para mielomas. Para os ensaios *in vivo*, foram utilizados diferentes modelos de tumores humanos, da mama, próstata, estômago, rins e bexiga, apresentando resultados positivos tanto para a atividade antitumoral como na avaliação do perfil toxicológico. A citotoxicidade desta substância ainda não está perfeitamente esclarecida, principalmente porque consiste de vários estágios que envolvem o bloqueio do ciclo celular, induzindo um acúmulo de células nas fases G1/ G0, seguido de apoptose.(1) Relativamente aos ensaios clínicos, existem onze relatórios até à data na literatura, com os resultados recentes dos estudos da fase I sendo relatados em 2012, a partir do trabalho no Reino Unido. Estes foram seguidos por novos relatórios em 2013, onde respostas objetivas, principalmente doença estável, foram verificadas num pequeno número de doentes. Em contraste, também em 2013, um relatório foi publicado demonstrando a falta de resposta e o fim do ensaio de fase II deste composto numa população fortemente pré-tratada com câncros endometrial ou cervical avançados e/ou metastáticos. (16)

A lurbinectedina é uma variação da estrutura básica dos alcalóides de isoquinolina dimérica, tendo uma porção tetra-hidro- β -carbolina em vez da tetra-hidroisoquinolina presente no anel C, e liga-se ao sulco menor do DNA. (2) O composto mostrou ter diferentes comportamentos farmacocinéticos em doentes e para atenuar a reparação de excisão nuclear. Demonstrou ainda sinergia com agentes baseados em platina *in vitro*, sugerindo um possível regime de tratamento, uma vez que também demonstrou atividade contra linhas celulares resistentes à platina. Os ensaios clínicos de fase II estão em desenvolvimento em Espanha, e está também a ser realizado um estudo de dois anos contra o cancro pancreático metastático em Espanha e no Reino Unido. (16)

O leconotídeo (ω -conotoxina) é um peptídeo de vinte e sete resíduos com três ligações cisteína-cisteína internas, com estrutura geral semelhante à do ziconotídeo, que se encontra na fase I de ensaios clínicos na Austrália, para o tratamento da dor relacionada com doenças cancerígenas.

Não são apenas os antitumorais que têm grandes perspectivas de crescimento na área dos compostos marinhos. A investigação em tratamentos para doenças neurodegenerativas tem-se desenvolvido cada vez mais, também devido ao número de pessoas com essas doenças. A demência atinge cerca de 50 milhões de pessoas em todo o mundo e este número tende a aumentar para mais de 100 milhões de pessoas até 2050. (18) Um composto que se encontra em fase III de ensaios clínicos é a homotaurina. Este composto é isolado de uma alga vermelha está a ser testado para o tratamento da Doença de Alzheimer ligeira a moderada, tendo mostrado eficácia suficiente. Este composto foi também testado para a

Doença de Parkinson, no entanto, não demonstrou eficácia acrescentada em relação ao grupo controle. (17)

A topsentina (Figura 15), proveniente da esponja *Spongosporites ruetzleri* é um composto já estudado a nível da ação anti-inflamatória em situações de artrite e irritação da pele, estando a ser investigado para o tratamento da Doença de Alzheimer.(6)

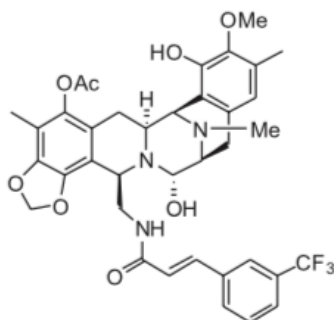


Figura 14. Estrutura da Zalypsis® (1)

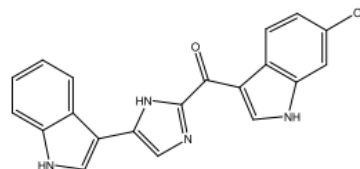


Figura 15. Estrutura da topsentina (6)

O DMXBA é um análogo sintético do alcaloide tóxico produzido por várias espécies de vermes nemertíneos, como o *Paranemertes peregrine* e o *Amphiporus lactifloreus*, melhorou o défice cognitivo e sensorial em vários modelos animais e mostrou efeitos neuroprotetores *in vitro* e *in vivo*. As fases I e II de ensaios clínicos mostraram uma melhoria cognitiva significativa em adultos jovens saudáveis e em pacientes esquizofrénicos, estando a ser desenvolvido um medicamento para o tratamento da Doença de Alzheimer e da esquizofrenia com este composto. (19)

Apesar da necessidade urgente de novos antibióticos, particularmente para combater o surgimento de bactérias resistentes a antibióticos, o desenvolvimento de novos antibióticos avançou lentamente e há poucos compostos a serem investigados. (19) A antracicimicina, um antibiótico policétido, descoberto em 2013, derivado de actinobactérias marinhas, demonstrou atividade significativa contra o *Bacillus anthracis*, a bactéria que causa o antraz. Este composto encontra-se em fase de estudos pré-clínicos. (20)

Outras aplicações

Ferramentas Experimentais e de Diagnóstico

A enzima Taq polimerase, atualmente insubstituível para o PCR (*polymerase chain reaction*), foi primeiramente isolada da bactéria *Thermus aquaticus*, em fontes termais. Entretanto, outras enzimas de fontes termais e ambientes marinhos foram reportadas. Pfu, uma enzima de um termófilo marinho, *Pyrococcus furiosus*, é agora também usado no PCR. (3)

GFP (*green fluorescent protein*) foi isolada a partir da medusa *Aequorea victoria*. É usada como biomarcador para marcação de estruturas celulares *in vitro* e *in vivo*. São usados também a ficoeritrina e outros pigmentos de cianobactérias fotoautotróficas. (3)

LAL, *Limulus-Amoebocyte-Lysate*, derivado do caranguejo *Limulus polyphemus*, é utilizado na forma de *LAL test* para a detecção sensitiva de lipopolissacáridos pirogênicos (LPS) de bactérias gram-negativas. A Farmacopeia Europeia prescreve o teste LAL para verificação da ausência de LPS na parenteralia. (3)

Keyhole limpet hemocyanin (KLH) é uma metaloproteína grande, multisubunitária e transportadora de oxigênio, que é encontrada na hemolinfa da lapa gigante *Megathura crenulata*. É usado como transportador de hapteno, como componente de vacinas e, clinicamente, para o tratamento do carcinoma da bexiga.

Algumas toxinas marinhas têm vindo a ter importância como ferramentas devido à sua especificidade como alvos e modo de ação. Como exemplos temos a tetrodotoxina, o ácido ocadaico e a palitoxina. A tetrodotoxina, um alcalóide chinazólico, é bem conhecido como toxina secundária em “puffer fishes”. É produzido por uma bactéria marinha e entra nos peixes ao longo da cadeia alimentar. Tem como alvo específico os canais de cálcio Na^+ e pode ser utilizado para a investigação de processos fisiológicos mediados por esses canais iônicos. Além disso, está presente em ensaios clínicos contra a dor não controlada, relacionada com doenças cancerígenas. (3)

O ácido ocadaico é um inibidor específico de fosfatases serina/treonina. Este policétido é produzido por *Dinophysis* sp. e *Prorocentrum* sp. e uma das causas de diarreia provocada pela ingestão de moluscos contaminados, que pode levar à morte em humanos. O composto é uma ferramenta útil no estudo de mecanismos de doenças que estão associadas a fosforilação proteica, como a Doença Alzheimer. Palitoxina é um policétido longo, produzido por micróbios marinhos e primeiramente isolado a partir de esponjas. Tem um modo específico de ação nas bombas Na^+/K^+ em membranas conduzindo a diferentes efeitos secundários. Pode ser usado para análise de estrutura e mecanismos como bombas de íons. (3)

Cosmética

Tradicionalmente, no campo da indústria cosmética, os cosméticos eram definidos como artigos a serem aplicados ao corpo humano para limpeza, embelezamento, alteração da aparência sem afetar a estrutura ou funções do corpo. No entanto, mais recentemente, a indústria cosmética introduziu uma classe especial de produtos, os cosmeceúticos, como uma combinação de cosméticos e produtos farmacêuticos, onde compostos bioativos são agora combinados com cremes, loções e pomadas. (4) Juntamente com as indústrias farmacêutica

e nutracêutica, a indústria cosmecêutica está cada vez mais voltada para o mar na busca de novas moléculas. (19)

Os cosmecêuticos encontram-se em grande expansão e prevê-se que a comercialização e as vendas aumentem bastante nas próximas décadas. Por conseguinte, a indústria cosmética está a investir na pesquisa de novas moléculas bioativas de origem marinha. (4) Foram já realizados vários estudos em aplicações cosmecêuticas e produção de produtos novos que têm melhor qualidade e preço mais barato. (13)

Uma das classes moleculares mais comuns de compostos usados no setor de ingredientes bioativos para cuidados pessoais é o exopolissacárido (EPS). Vários microrganismos, como proteobactérias e cianobactérias, produzem EPS. O deepsano, produzido por *Alteromonas macleodii* é um tipo de EPS (HYD675) que é eficaz na proteção de queratinócitos contra agentes inflamatórios, como o interferão gama (INF- γ) e molécula de adesão celular 1 (ICAM-1). Tem também demonstrado efeitos protetores em células de *Langerhans* sensíveis a raios ultravioleta e tem um papel fundamental no sistema imunitário cutâneo humano. O deepsano é comercializado para suavizar e reduzir a irritação da pele sensível contra agressões químicas, mecânicas e raios ultravioleta B (UVB). (19)

Os hidratos de carbono marinhos são conhecidos desde a antiguidade clássica. Os polissacáridos sulfatados, como a fucoidina, a carragenina e o alginato, isolados em algas marinhas e alguns invertebrados marinhos, fornecem uma boa fonte de antioxidantes usados na indústria cosmecêutica. A fucoidina é usada como antiulcerador na produção de alimentos e aumenta a atividade da enzima metaloproteinase-1 na pele humana, sendo usada como agente anti-envelhecimento para prevenir o fotoenvelhecimento da pele na produção de cosméticos. A carragenina é um galactano sulfatado que é na sua maioria isolada de algas vermelhas marinhas. Este composto é uma importante produção utilizada na indústria cosmética devido à sua capacidade física, funcional e atividade antioxidante, sendo também utilizada em anti-envelhecimento. A capacidade de gelificação do carbonato é útil na produção de uma textura mais alta, com maior consistência na produção de cosméticos. Outros produtos, tais como loções para a pele, pastas de dentes e espumas de barbear estão disponíveis a partir de carragenina isolada de algas marinhas. O alginato é encontrado nas paredes celulares dos organismos marinhos, isolado de algas marinhas. É composto por duas unidades de ácidos gulurónico e manurónico, sendo altamente dependente da modificação de pH e temperatura. Os alginatos têm uma ampla aplicação na indústria cosmecêutica devido à sua elevada estabilidade e agente gelificante, sendo também aplicável no enxerto da pele em cirurgia plástica. Além disso, têm aplicação na cicatrização de feridas devido à formação e degradabilidade do hidrogel, proporcionando um ambiente húmido para a ferida. Foi estudado que a atividade biológica dos alginatos depende do seu peso molecular, teor sulfatado e grupo aniónico, o que faz com que tenha atividade antioxidante. (13)

Outra substância utilizada em produtos de cuidado de pele são os pseudopteroides, provenientes de *Pseudopterogorgia elisabethae*, potentes agentes anti-inflamatórios e analgésicos que inibem a biossíntese de eicosanóides por inibição da fosfolipase A2 e da 5-lipoxigenase. Além disso, um derivado de uma pseudopterossina natural, a methopterosina, completou os ensaios clínicos de fase I e II como agente cicatrizante de feridas. (19)

As microalgas são a fonte de alguns dos produtos de cuidados para a pele mais inovadores da atualidade. O ácido algarúnico é uma mistura não-polimerizada de polissacarídeos produzidos por microalgas com propriedades anti-envelhecimento significativas. O alguard é um composto polissacarídico sulfatado natural isolado a partir de uma microalga vermelha única, do género *Porphyridium*, que protege contra danos no fotoenvelhecimento e micro abrasão da pele. (19)

Desafios para a indústria farmacêutica

Após o processo de investigação de moléculas, isolamento e determinação estrutural do composto principal (4), surge o desafio de produção à escala industrial. Um ponto crítico no processo de desenvolvimento de fármacos a partir de organismos marinhos é a disponibilidade permanente de quantidades suficientes de organismos e compostos, sem prejudicar o ambiente marinho. Os fármacos de origem marinha apenas terão oportunidade no mercado, caso a oferta seja tratada de maneira economicamente viável. (3) Na maioria das vezes, o composto de interesse está presente apenas em pequenas quantidades e pode ser muito difícil de isolar. No caso de tecidos de invertebrados marinhos, que apresentam problemas únicos relacionados à extração devido ao seu alto teor de água e sal, os desafios são ainda maiores. (4) Se a colheita não puder ser realizada de maneira sustentável, o problema da oferta pode ser resolvido por processos de biotecnologia marinha (cultivo de aquacultura, maricultura, fermentação, engenharia genética, síntese enzimática ou modificação) ou por síntese, hemi-síntese e modificação da estrutura química. (3)

A maricultura e a aquacultura têm sido tentadas para resolver o problema do fornecimento sustentável de macro-organismos. A maricultura fundamenta-se pelo favorecimento do crescimento de organismo no seu meio natural, enquanto a aquacultura está definida como a produção de macroalgas, de animais marinhos, peixes e alguns moluscos, para alimentação (3), sob condições controladas. (4) O cultivo em biorreatores é realizado para macro e microalgas, alguns tipos de células de invertebrados, fungos marinhos e várias espécies de bactérias marinhas. No entanto, a maioria dos organismos marinhos com interesse farmacológico, especialmente micro-organismos, não podem ser cultivados em condições artificiais. É necessário entender-se melhor as condições de vida em ambiente natural para se desenvolverem métodos alternativos de cultivo e, também, de modo a manter

a produção de metabolitos num longo período de tempo. Uma maneira promissora poderá ser o co-cultivo, também chamado de fermentação mista, de dois ou mais organismos diferentes, principalmente microrganismos, que tenta mimetizar a complexidade encontrada na natureza. O co-cultivo amplia a diversidade química dos metabolitos produzidos pelos organismos cultivados, o que leva a um aumento de produção de compostos constitutivamente presentes e/ou a um acúmulo de compostos crípticos que não são detetados em culturas axénicas da linhagem de produção. (3) Qualquer que seja a utilização futura do composto (fármaco, cosmético, etc.), são necessárias várias gramas a centenas de gramas para o desenvolvimento pré-clínico, sendo necessárias grandezas de quilogramas para fases clínicas e de toneladas para posteriores utilizações cosméticas. No entanto, as condições únicas e por vezes exclusivas do mar tornam o cultivo ou a manutenção das amostras isoladas muito difícil e muitas vezes impossível. Por exemplo, esponjas e a sua microbiota geralmente não são adequadas para o cultivo, portanto, o composto de interesse pode necessitar de ser extraído e purificado das espécies recolhidas da natureza. Estas restrições levam à perda de uma parcela importante da biodiversidade marinha disponível e representam uma grande limitação no suprimento sustentável do composto natural desejado. (4)

A falta de suprimento sustentável de substâncias interrompeu o desenvolvimento de vários compostos marinhos altamente promissores. De modo a ultrapassar esta barreira, aplicou-se o desenvolvimento de análogos obtidos por síntese ou hemi-síntese, derivados com propriedades mais adaptáveis, ou através de um farmacóforo de reduzida complexidade que pode posteriormente ser sintetizado. De notar que estes métodos apresentam também limitações. (4) Apesar da síntese total ser possível na maioria dos compostos marinhos conhecidos, pode ser economicamente realizável apenas para produtos relativamente simples. Um exemplo é o ziconotídeo, um péptido analgésico. A complexidade estrutural dos compostos isolados e a pequena quantidade de amostras, especialmente no caso de compostos de origem marinha, podem contribuir para alguns erros de várias categorias: fórmula incorreta, composição, configuração da dupla ligação, configuração absoluta, e um ou vários estereocentros atribuídos incorretamente. (4)

A engenharia genética e as modificações químicas e/ou enzimáticas são ainda outras técnicas utilizadas no aumento do rendimento de produção de substâncias provenientes de organismos marinhos. O princípio do primeiro método mencionado é a transferência de informação genética para o composto desejado em células hospedeiras, que podem ser facilmente cultivadas, e produção sustentável das células hospedeiras. O conhecimento exato da informação genética é um pré-requisito para este método. Tais técnicas permitem o isolamento e expressão de genes de organismos, que não podem ser cultivados. Até agora, esta abordagem está a ser realizada em investigação, mas não à escala industrial para fármacos comercializáveis. As modificações químicas e/ou enzimáticas de compostos

naturais, como estruturas-mãe, podem aumentar a variabilidade estrutural e melhorar as propriedades do produto. (3) A hidrólise enzimática de proteínas permite a preparação de péptidos bioativos e estes podem ser obtidos por hidrólise *in vitro* de fontes proteicas utilizando enzimas proteolíticas apropriadas. As condições físico-químicas do meio reacional, como temperatura e pH da solução proteica, devem ser ajustadas para otimizar a atividade da enzima utilizada. As enzimas proteolíticas de micróbios, plantas e animais podem ser utilizadas para o processo de hidrólise de proteínas marinhas para desenvolver péptidos bioativos. A a-quimotripsina, papaína, neutrase e tripsina têm sido utilizadas para a hidrólise do músculo escuro do atum em condições ótimas de pH e temperatura das respectivas enzimas. Além disso, um dos fatores mais importantes na produção de péptidos bioativos com propriedades funcionais desejadas é o peso molecular, portanto, para a recuperação eficiente e para obter péptidos bioativos com tamanho molecular e propriedade funcional desejados, um método adequado é o uso de um sistema de membrana de ultrafiltração, sistema que tem como vantagem principal o controle da distribuição do peso molecular pela inclusão de uma membrana de ultrafiltração apropriada. A tecnologia de biorreatores de membrana equipada com membranas de ultrafiltração surge recentemente para o desenvolvimento de compostos bioativos e é considerado um método potencial para a utilização de proteínas marinhas como nutracêuticos de valor agregado com efeitos benéficos à saúde. (5)

No entanto, especialmente nas indústrias alimentar e farmacêutica, o método de hidrólise enzimática é preferido em detrimento do uso de solventes orgânicos ou de produtos químicos tóxicos nos produtos. Os péptidos bioativos são inativos nas sequências das proteínas iniciais, mas podem ser libertados por hidrólise enzimática. Além disso, os péptidos bioativos geralmente contêm de 3 a 20 resíduos de aminoácidos, e a atividade baseia-se na composição e sequência dos aminoácidos (3)

Tal como abordado ao longo desta monografia, surgem vários desafios na identificação, desenvolvimento e comercialização de produtos naturais de origem marinha.

Apesar do número reduzido de fármacos com essa origem, é notável o número de substâncias em fase de ensaios pré-clínicos e clínicos para o tratamento de certas doenças, destacando a classe dos antitumorais. Muitas delas, como constatado anteriormente, já se encontram aprovadas e comercializadas. No entanto, mesmo com uma grande evolução nesta área, existe um fator limitante nas substâncias de origem marinha, a toxicidade associada ao seu uso, principalmente observada nos ensaios clínicos.

Havendo uma diversidade muito grande de espécies marinhas, estas são uma fonte rica de novas substâncias potencialmente terapêuticas, sendo, portanto, necessária uma correta determinação taxonômica do organismo produtor. Contudo, ainda é necessário o desenvolvimento de tecnologias de modo a avaliar-se a biodiversidade disponível nos oceanos, pois o grande número de variedades de espécies não identificadas, constitui um

entreve na área do desenvolvimento de fármacos de origem marinha. Uma classificação incorreta de uma espécie pode comprometer todo um projeto de descoberta de novas moléculas (4), não apenas porque é impossível reproduzir o isolamento no caso de um extrato e / ou metabólito bioativo, mas também porque pode induzir erros no processo.

As técnicas moleculares avançadas têm permitido a caracterização taxonómica e fisiológica detalhadas dos organismos deste meio (3). Relativamente ao cultivo de espécies marinhas, o avanço de técnicas de amostragem tem permitido o acesso a amostras de organismos que não se encontram próximos da costa e/ou no fundo do mar. São, portanto, necessárias tecnologias específicas de fermentação para cultivar organismos que vivem na natureza sob condições extremas (3). Contudo, ainda existem limitações, pois como ainda não se conhece totalmente os organismos e os seus metabolismos, por vezes pode ser difícil o seu cultivo e extração de substâncias farmacologicamente interessantes.

O acesso ao mercado constitui uma das grandes limitações das substâncias provenientes de organismos marinhos. Para além dos requisitos para obter acesso ao mercado serem os mesmos para os fármacos de origem marinha que os de origem terrestre e de todo o processo de aprovação requerer um período de tempo bastante longo e muito investimento monetário, há um risco elevado de compostos marinhos promissores falharem devido à sua toxicidade. Daí a importância de uma equipa interdisciplinar composta por biólogos, químicos, farmacêuticos, médicos, entre outros, de modo a diminuir precocemente estes riscos (3).

Tendo em conta todos os desafios e avanços mencionados, perspectiva-se o desenvolvimento dos produtos naturais marinhos, com minimização do impacto e diminuição das limitações atualmente existentes.

Conclusões

Os produtos naturais de origem marinha têm vindo a mostrar a sua atividade no tratamento de várias doenças, potenciando e inovando alguns tratamentos. Para além dos resultados positivos nos fármacos já aprovados, as substâncias derivadas de organismos marinhos representam uma promessa em novas alternativas terapêuticas, principalmente no tratamento de doenças cancerígenas. É já considerável o número de substâncias em fases de ensaios clínicos, não só com atividade antitumoral, mas também com ação antibacteriana e ao nível de doenças neuro degenerativas. Estas descobertas revelam-se de extrema importância devido ao facto de muitos tratamentos convencionais estarem a provocar resistências, o que os novos fármacos de origem marinha têm conseguido combater.

O desenvolvimento de muitos produtos naturais marinhos em fase de estudos clínicos estão intimamente ligados ao surgimento de métodos inovadores, tanto na biotecnologia, como genética. No que toca à síntese, estão reações enzimáticas complexas envolvidas,

aliadas à obtenção de quantidades suficientes de moléculas de origem marinha para estudos clínicos e eventual comercialização. No entanto, estas áreas estão longe de atingir a maturidade, havendo a necessidade de uma procura contínua de novas fontes e estratégias de produção.

Apesar da grande diversidade de substâncias provenientes de organismos marinhos, estas demonstram algumas limitações relativamente à toxicidade e identificação correta das mesmas. Ainda que a diversidade constitua um fator limitante, há uma panóplia de possibilidades de desenvolvimento de novos fármacos, sendo que as prioridades se devem focar nas doenças infecciosas e crónicas, para os quais os tratamentos atuais têm muitos inconvenientes.

Podemos considerar os organismos marinhos como uma fonte de novos fármacos, com elevado potencial em várias áreas, embora existam ainda etapas que é necessário ultrapassar.

Bibliografia

1. Costa-lotufo LV, Wilke DV, Jimenez PC, Epifanio RDA. Marine organisms as a source of new pharmaceuticals: History and perspectives. *Quim Nova*. 2009;32(3):703–16.
2. Newman DJ, Cragg GM. Drugs and Drug Candidates from Marine Sources: An Assessment of the Current “state of Play.” *Planta Med*. 2016;82(9–10):775–89.
3. Lindequist U. Marine-derived pharmaceuticals - challenges and opportunities. *Biomol Ther*. 2016;24(6):561–71.
4. Martins A, Vieira H, Gaspar H, Santos S. Marketed marine natural products in the pharmaceutical and cosmeceutical industries: Tips for success. *Mar Drugs*. 2014;12(2):1066–101.
5. Kim SK, Wijesekara I. Development and biological activities of marine-derived bioactive peptides: A review. *J Funct Foods*. 2010;2(1):1–9.
6. Murti Y, Agrawal T. Marine derived pharmaceuticals- development of natural health products from marine biodiversity. *Int J ChemTech Res*. 2010;2(4):2198–217.
7. Anjum K, Abbas SQ, Shah SAA, Akhter N, Batool S, Hassan SSU. Marine sponges as a drug treasure. *Biomol Ther*. 2016;24(4):347–62.
8. Wiese J, Imhoff JF. Marine bacteria and fungi as promising source for new antibiotics. *Drug Dev Res*. 2019;80(1):24–7.
9. Rangel M, Falkenberg M. An overview of the marine natural products in clinical trials and on the market. *J Coast Life Med*. 2015;3(6):421–8.
10. Mayer AMS, Glaser KB, Cuevas C, Jacobs RS, Kem W, Little RD, et al. The odyssey of marine pharmaceuticals: a current pipeline perspective. *Trends Pharmacol Sci*. 2010;31(6):255–65.
11. Perdicaris S, Vlachogianni T, Valavanidis A. Bioactive Natural Substances from Marine Sponges: New Developments and Prospects for Future Pharmaceuticals. *Nat Prod Chem Res*. 2013;01(03):1–8.
12. Menshova R V., Shevchenko NM, Imbs TI, Zvyagintseva TN, Malyarenko OS, Zaporoshets TS, et al. Fucoidans from brown alga *Fucus evanescens*: Structure and biological activity. *Front Mar Sci*. 2016;3(AUG):1–9.
13. Ali B, Abdul A. Pharmaceutical , Cosmeceutical and Traditional Application of Marine Carbohydrate Food . *Marine Carbohydrate : Fundamentals and Applications , Advances*

- in Food and Nutrition Research ,. 2017;(April).
14. Carroll AR, Copp BR, Davis RA, Keyzers RA, Prinsep MR. Marine natural products. *Nat Prod Rep*. 2019;36(1):122–73.
 15. Mare DG. Blue growth - scenarios and drivers for sustainable growth from the oceans, seas and coasts. Final Report. Eur Comm [Internet]. 2012;(August):126.
 16. Newman DJ, Cragg GM. Marine-sourced anti-cancer and cancer pain control agents in clinical and late preclinical development. *Mar Drugs*. 2014;12(1):255–78.
 17. Russo P, Kisialiou A, Lamonaca P, Moroni R, Prinzi G, Fini M. New drugs from marine organisms in Alzheimer's disease. *Mar Drugs*. 2016;14(1):1–17.
 18. Hewes L. World Alzheimer Report 2018. Vol. 1, Alzheimer's Disease International (ADI), London. 2018.
 19. Jaspars M, De Pascale D, Andersen JH, Reyes F, Crawford AD, Ianora A. The marine biodiscovery pipeline and ocean medicines of tomorrow. *J Mar Biol Assoc United Kingdom*. 2016;96(1):151–8.
 20. Hensler ME, Jang KH, Thienphrapa W, Vuong L, Tran DN, Soubih E, et al. Anthracimycin activity against contemporary methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Antibiot (Tokyo)*. 2014 Apr 16;67:549.